

TEMA 20. Cadena de transporte electrónico y fosforilación oxidativa.

Transportadores universales de electrones. Estructura y biogénesis de la cadena respiratoria. Flujo de electrones en la cadena respiratoria. Modelo quimiosmótico de conservación de la energía: flujo de protones a través de los complejos de la cadena respiratoria de la membrana interna mitocondrial. Acoplamiento de la fuerza protón-motriz a la fosforilación del ADP y a otras funciones mitocondriales: energía del transporte intramitocondrial; energía termogénica. Transporte de nucleótidos a través de las membranas mitocondriales. Translocasas de fosfato. Lanzaderas de equivalentes de reducción. Regulación de la respiración mitocondrial y fosforilación oxidativa. Los citocromos como sistemas de detoxificación. El Citocromo P450.

BIOQUÍMICA-1º de Medicina
Dpto. Biología Molecular
José C Rodríguez Rey

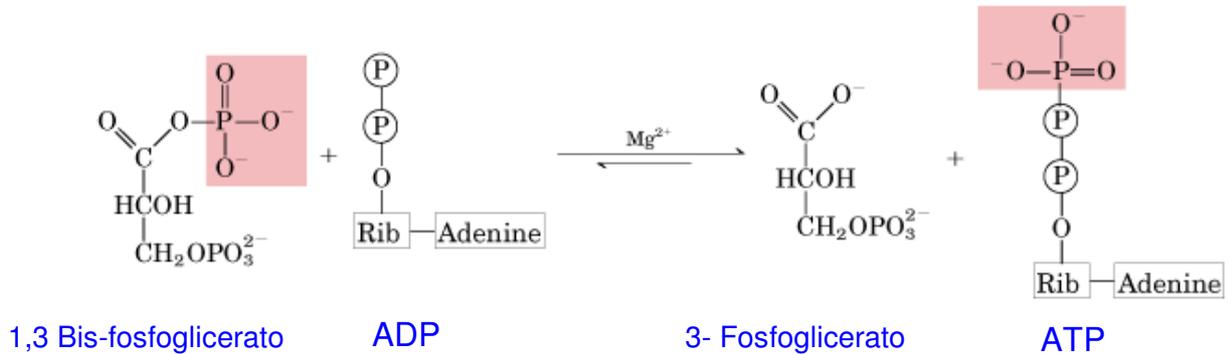


Origen del ATP

- Fosforilación de nivel de sustrato
- Fosforilación oxidativa

La fosforilación a nivel de sustrato es un mecanismo poco habitual de formación de ATP

FOSFOGLICERATO QUINASA

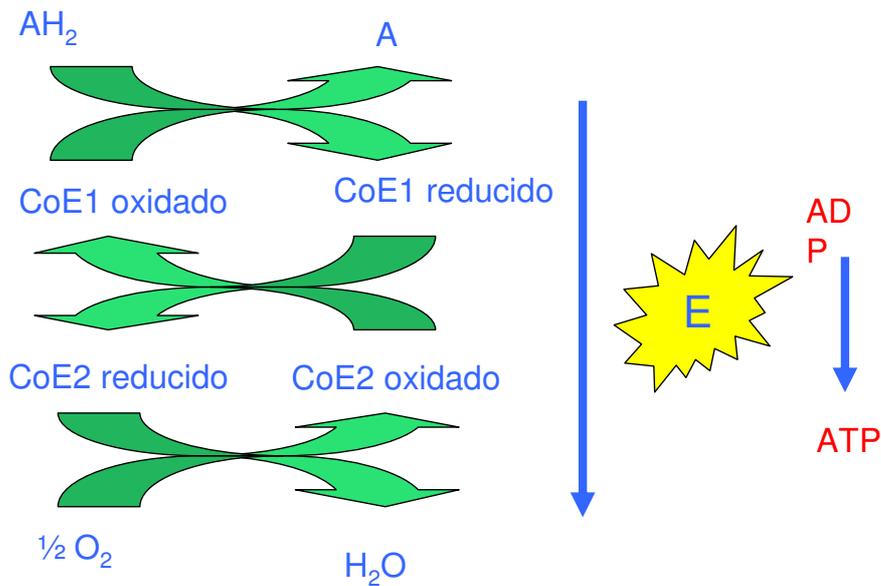


SUCCINIL CoA DH (Ciclo de Krebs)

CONCEPTOS BASICOS

1. Las reacciones productoras de energía son procesos de óxido-reducción
2. Un compuesto se oxida cuando pierde electrones
3. El aceptor final de los electrones liberados durante los procesos de oxidación biológicos es el oxígeno
4. La transferencia de electrones desde los compuestos oxidados al oxígeno produce energía
5. Esta energía se utiliza para la síntesis de ATP

La energía producida por el transporte electrónico se puede convertir en enlaces fosfato de alta energía en forma de ATP.



OBJETIVOS

1. Calcular la energía que se produce en los procesos de oxido-reducción.
2. Estudiar los componentes del proceso y su localización
3. Revisar el mecanismo de transferencia de los electrones al oxígeno (cadena de transporte electrónico)
4. Entender cómo se puede utilizar la energía del transporte electrónico en síntesis de ATP
5. Revisar los problemas que plantea la compartimentalización y cómo se resuelven
6. Estudiar la regulación del sistema
7. Ver otros ejemplos de enzimas que utilizan citocromos y su papel en el metabolismo

$$E = E^{\circ'} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{Aceptor de electrones}]}{[\text{Dador de electrones}]} \quad (\text{Ec de Nernst})$$

$$\Delta G = \Delta G^{\circ'} + RT \ln \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b}$$

$$\Delta G^{\circ'} = -RT \ln K_{eq}$$

$$\Delta G^{\circ'} = -nF \Delta E^{\circ'}$$

$$\Delta G = -nF \Delta E$$

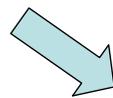
R(constante de los gases)= 8,315 julios/mol. °K

F(constante de Faraday)= 96.480 julios/voltio.mol

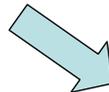


Flujo de electrones en las oxidorreducciones biológicas

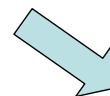
Metabolitos



NAD/ NADP
FMN/FAD



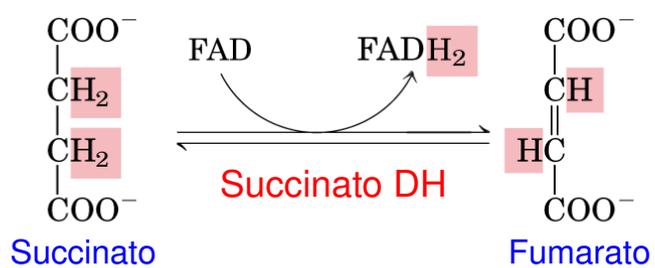
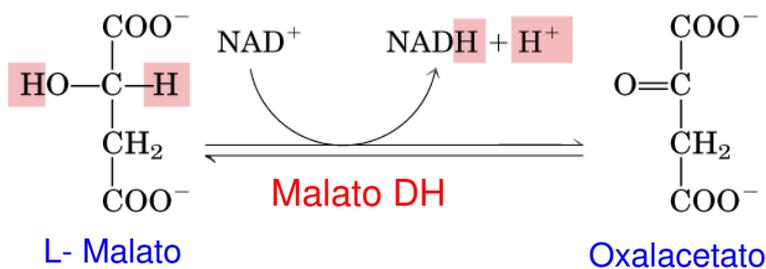
Transportadores de
electrones de la cadena
respiratoria



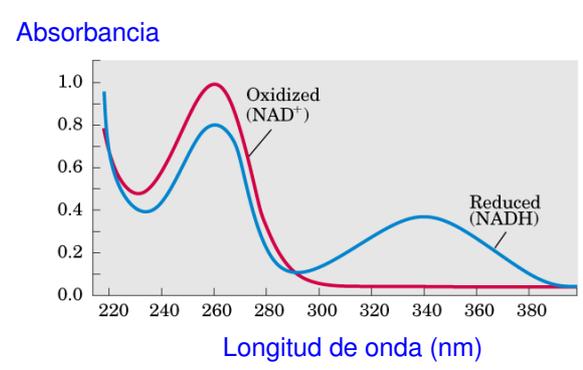
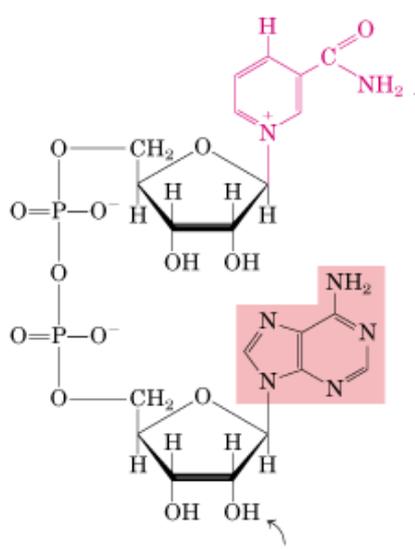
Oxígeno



NAD y FAD son los receptores de los electrones en las reacciones de las rutas metabólicas

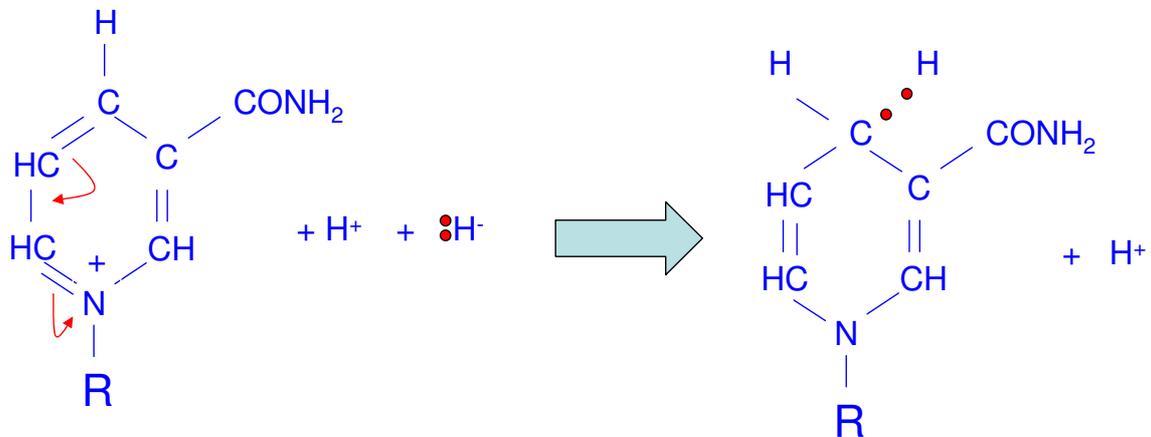


Coenzimas de oxidorreducción 1: NAD(P)⁺



De Nelson et al. Principles of Biochemistry. 4th Ed. Freeman

Transferencia de electrones al NAD(P)⁺



Algunos enzimas que utilizan NAD(P)⁺ como cofactores

Enzimas ligadas a NAD⁺

Alfa- cetoglutarato DH
Malato DH
Piruvato DH
Gliceraldehido- 3 -fosfato DH
Lactato DH
Beta- hidroxiacil- CoA DH

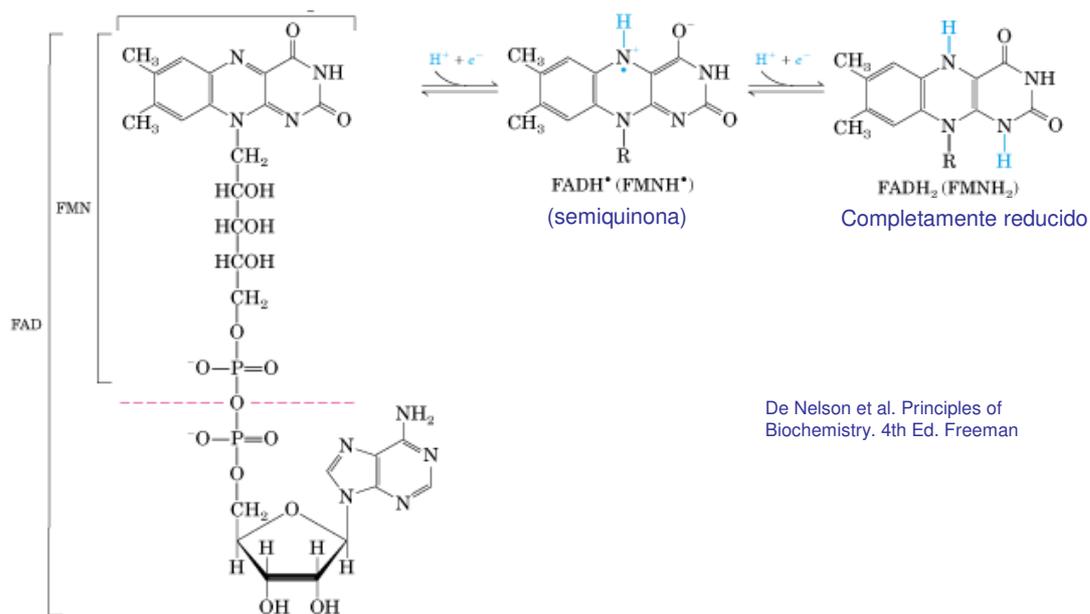
Ligadas a NADP⁺

Glucosa- 6- fosfato DH

Ligadas a NAD⁺ o NADP⁺

Glutamato DH

Nucleótidos de flavina



Algunas enzimas (Flavoproteínas) que utilizan nucleótidos de Flavina como coenzimas

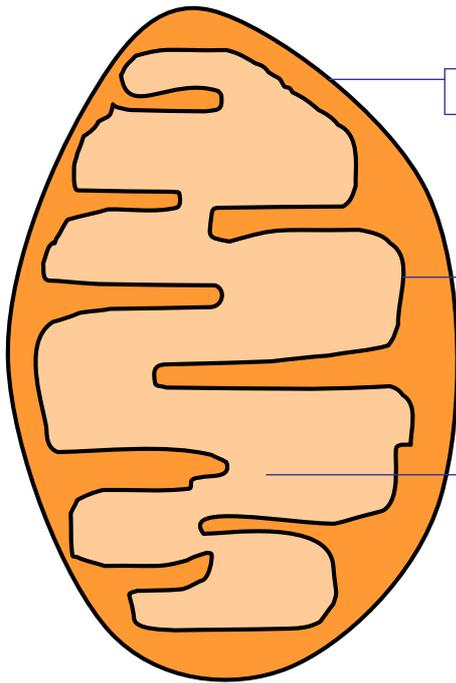
Ligadas a FAD

Acil CoA DH
Dihidrolipoil DH
Succinato DH
Glicerol3 P DH

Ligadas a FMN

NADH DH

Estructura bioquímica de la mitocondria



Membrana externa: 60% proteínas (alto contenido en PORINA)

Membrana interna (80% de proteínas)
 ATP sintasa
 Translocasa de ADP-ATP
 Cadena de transporte electrónico (complejos I-IV)

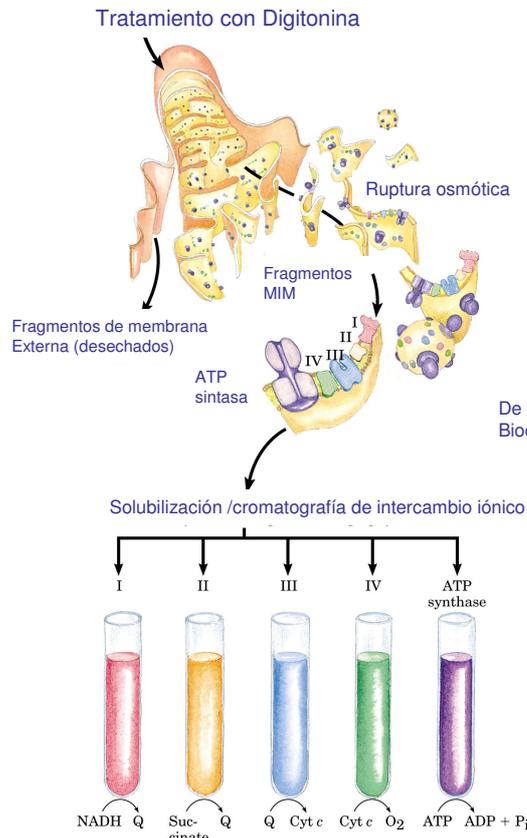
MATRIZ
 Enzimas del ciclo de los ácidos tricarboxílicos (excepto Succinato DH)
 Enzimas de la degradación de ácidos grasos
 Piruvato deshidrogenasa
 DNA mitocondrial
 Complejos de transcripción y traducción.
 Ribosomas
 Iones magnesio, calcio y potasio



TEMA 20

15

Separación de los complejos de la cadena respiratoria



De Nelson et al. Principles of Biochemistry. 4th Ed. Freeman

Reacciones catalizadas por las fracciones



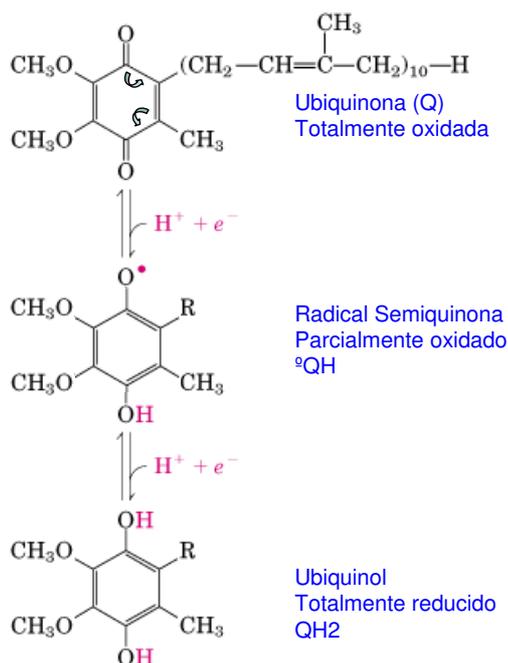
TEMA 20

16

COMPONENTES DE LA CADENA DE TRANSPORTE ELECTRONICO

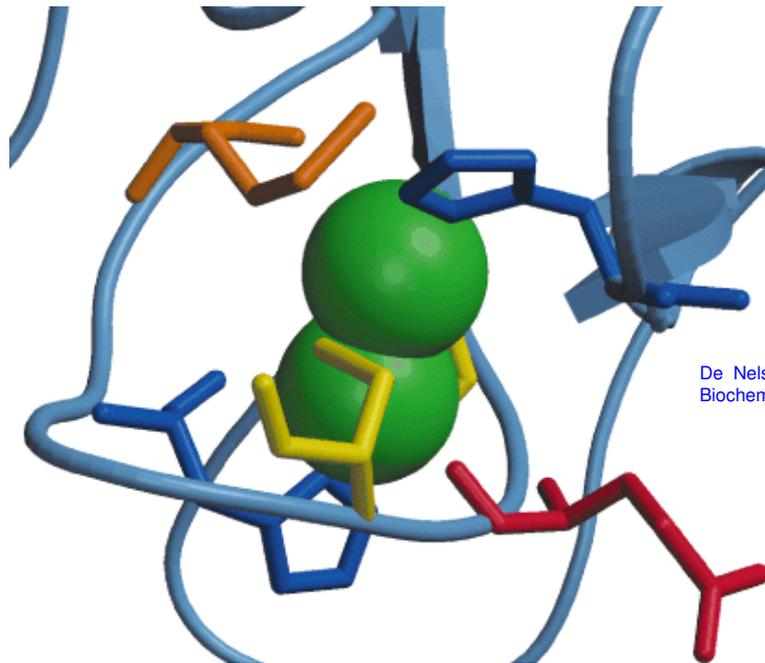
Complejo	Masa	Subunidades	Grupos
I NADH DH (I)	850	42	FMN, Fe-S
II Succinato DH	140	5	FAD, Hemo, Fe-S
CoQ (Ubiquinona)			
III Ubiquinona: Citc Oxidorreductasa (cit b y c1)	250	11	Hemo, Fe- S
Citocromo C	13	1	Hemo
IV Citocromo oxidasa (Cit a a3)	160	13	Hemos, CuA, CuB

Coenzima Q



De Nelson et al. Principles of Biochemistry. 4th Ed. Freeman

Centro de cobre binuclear (Complejo IV)



De Nelson et al. Principles of Biochemistry, 4th Ed. Freeman

En amarillo Cys
En naranja Met
En azul His
En rojo Asp

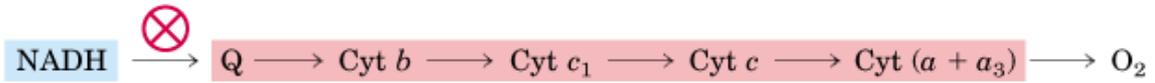
Potenciales de reducción estándar de los componentes de la cadena respiratoria

Semirreacción	E° (V)	
$2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \longrightarrow \text{H}_2$	-0.414	
I {	$\text{NAD}^+ + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \longrightarrow \text{NADH}$	-0.320
	$\text{NADP}^+ + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \longrightarrow \text{NADPH}$	-0.324
	$\text{NADH dehydrogenase (FMN)} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \longrightarrow \text{NADH dehydrogenase (FMNH}_2)$	-0.30
Ubiquinone + $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \longrightarrow$ ubiquinol	0.045	
III {	Cytochrome <i>b</i> (Fe^{3+}) + $\text{e}^- \longrightarrow$ cytochrome <i>b</i> (Fe^{2+})	0.077
	Cytochrome <i>c</i> ₁ (Fe^{3+}) + $\text{e}^- \longrightarrow$ cytochrome <i>c</i> ₁ (Fe^{2+})	0.22
	Cytochrome <i>c</i> (Fe^{3+}) + $\text{e}^- \longrightarrow$ cytochrome <i>c</i> (Fe^{2+})	0.254
IV {	Cytochrome <i>a</i> (Fe^{3+}) + $\text{e}^- \longrightarrow$ cytochrome <i>a</i> (Fe^{2+})	0.29
	Cytochrome <i>a</i> ₃ (Fe^{3+}) + $\text{e}^- \longrightarrow$ cytochrome <i>a</i> ₃ (Fe^{2+})	0.55
$\frac{1}{2}\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \longrightarrow \text{H}_2\text{O}$	0.816	

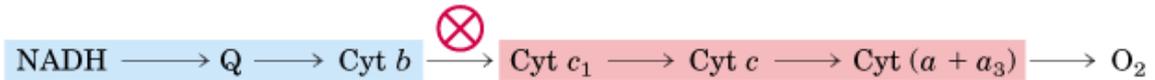


Determinación del orden de los transportadores de la cadena de transporte electrónico

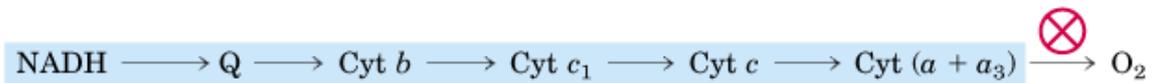
Rotenona, Amital



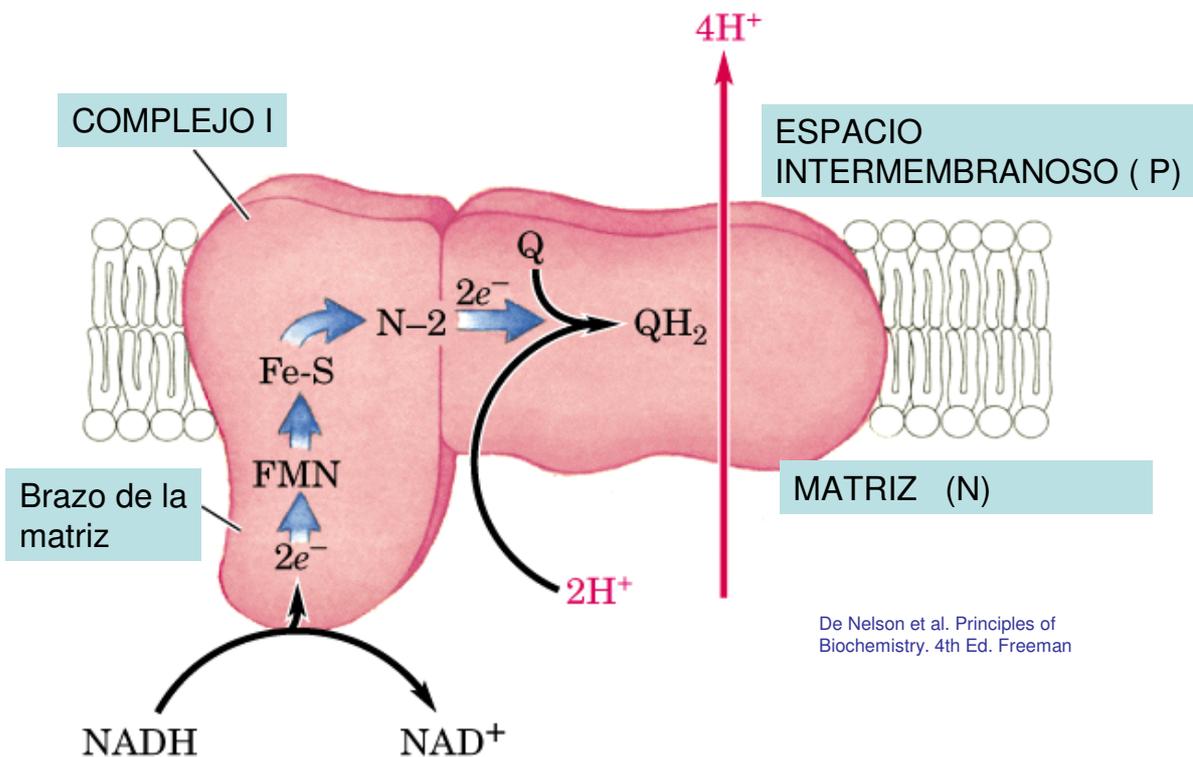
Antimicina C



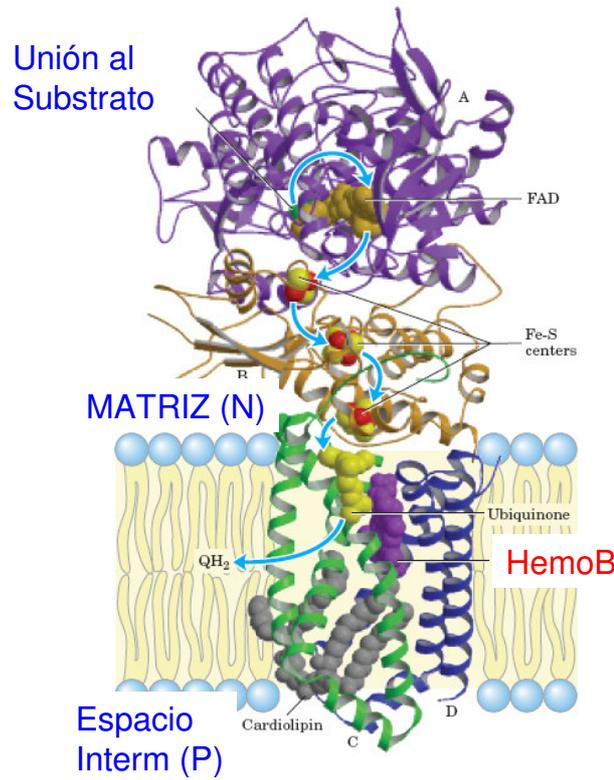
CN⁻ o CO



EL COMPLEJO I ES UNA BOMBA DE PROTONES



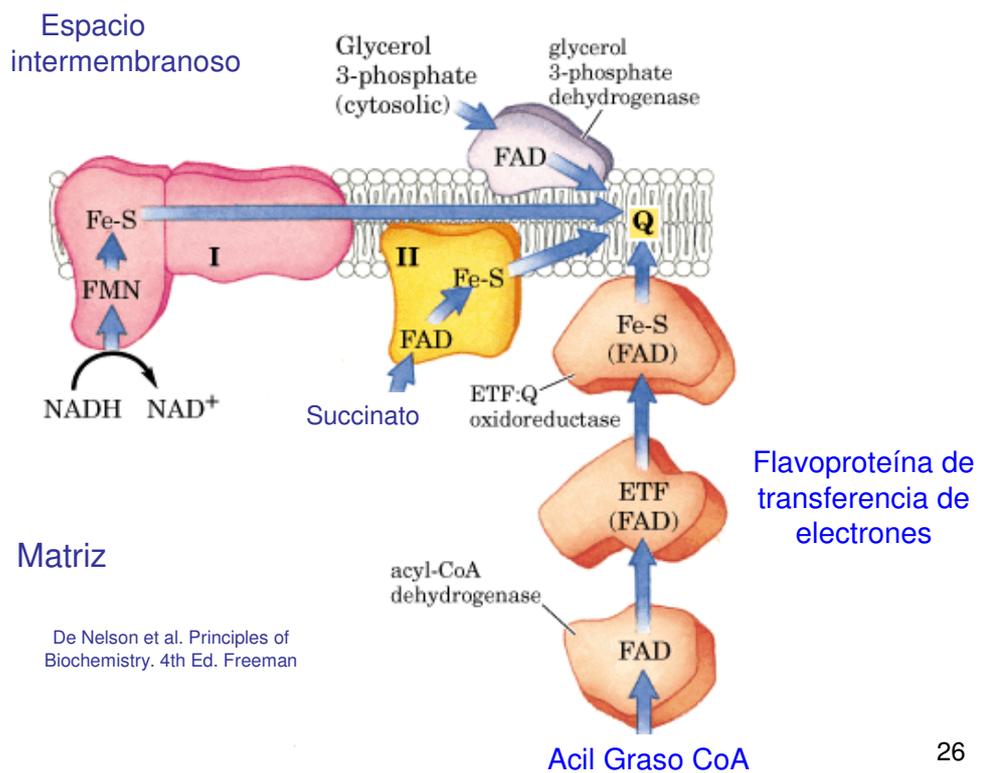
Estructura del complejo II (Succinato DH)



De Nelson et al. Principles of Biochemistry. 4th Ed. Freeman



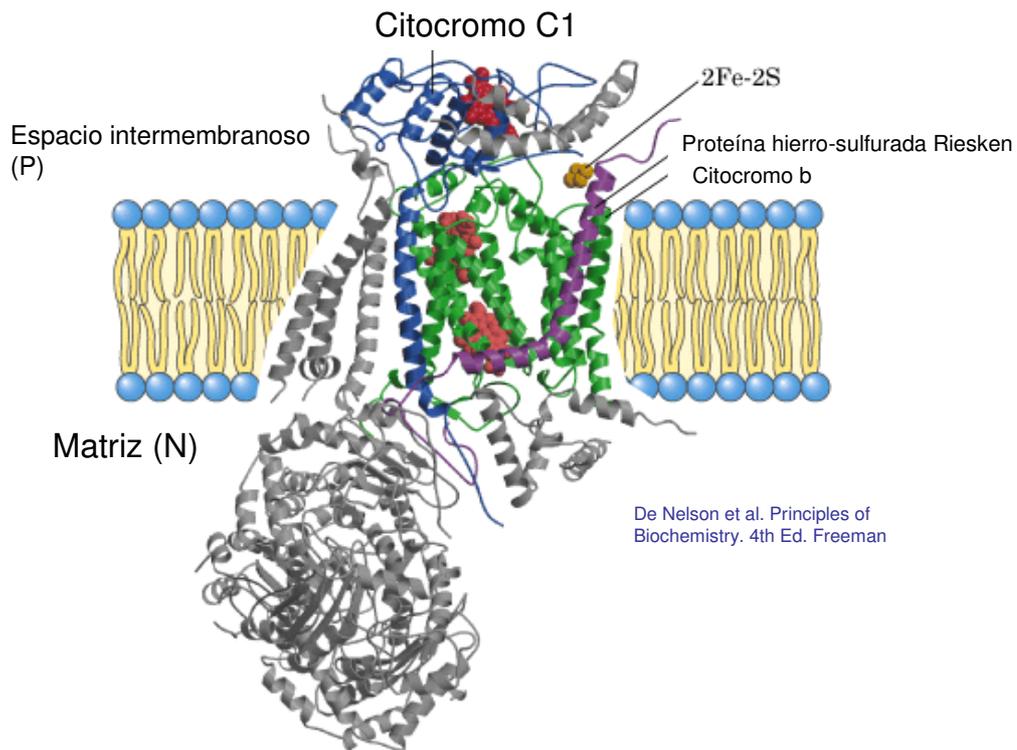
El coenzima Q es paso obligatorio de los electrones procedentes de varias vías



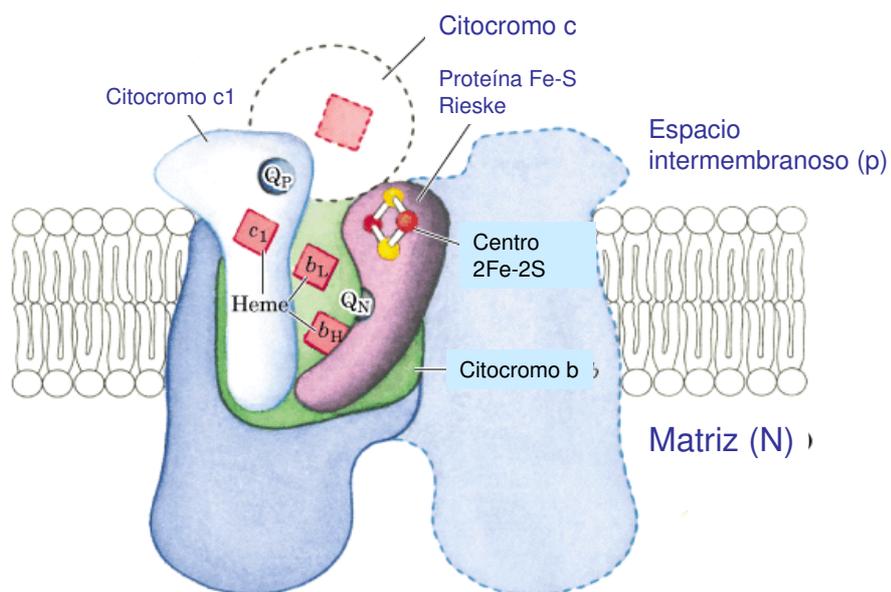
De Nelson et al. Principles of Biochemistry. 4th Ed. Freeman



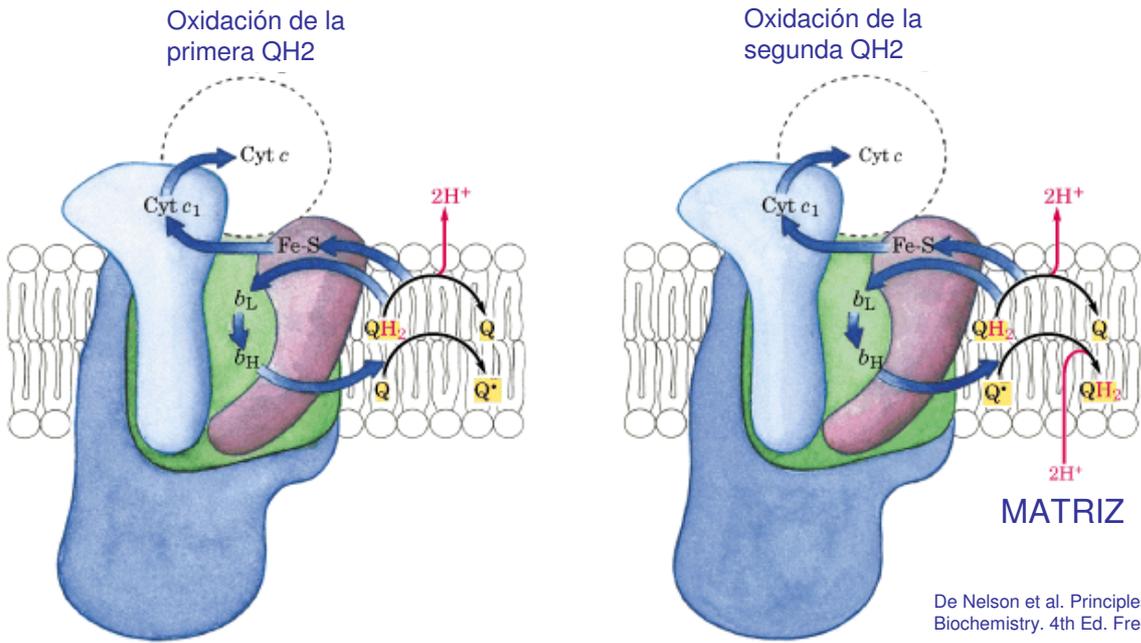
COMPLEJO III: Estructura del monómero



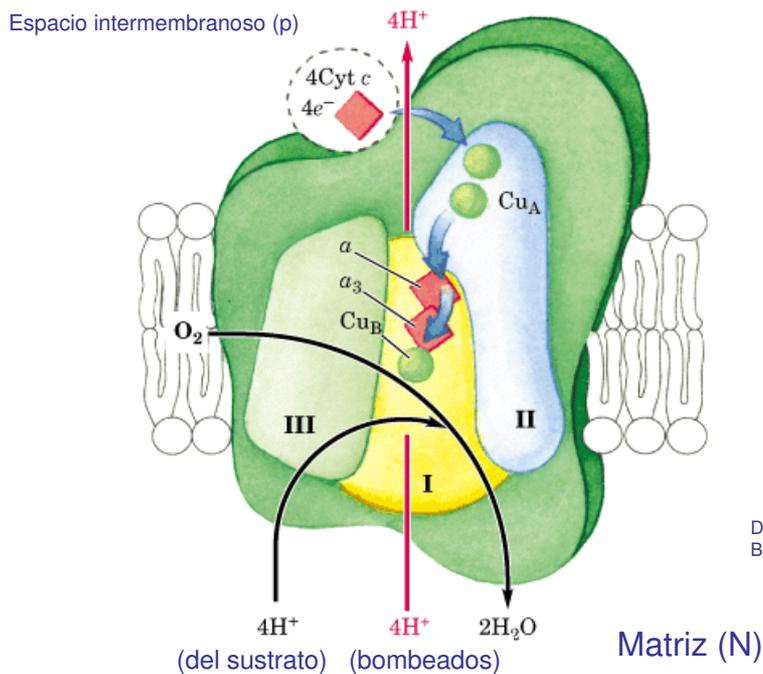
Ubiquinona- Citocromo c oxidorreductasa (Complejo III)



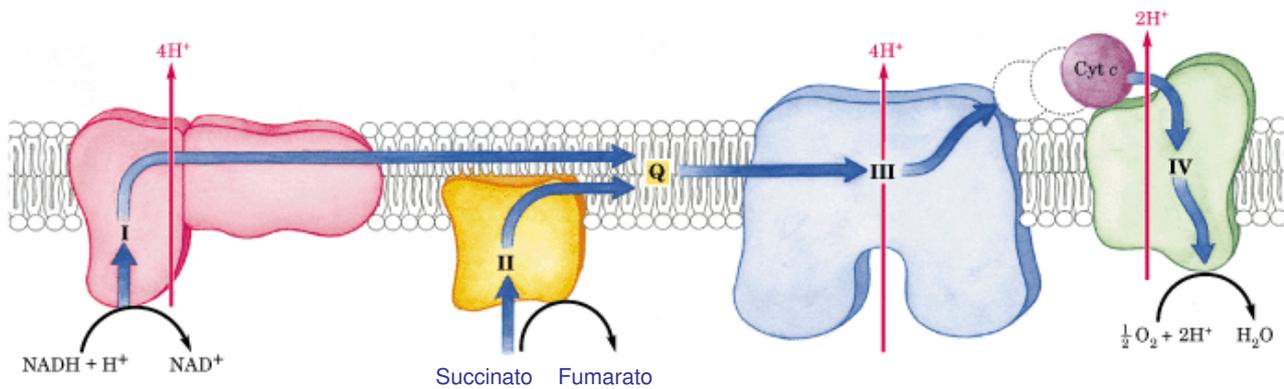
CICLO Q (Complejo III)



CITOCROMO OXIDASA: MECANISMO



El transporte de electrones origina un gradiente de protones



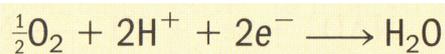
Matriz

Valores para 2 electrones transferidos

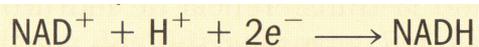
De Nelson et al. Principles of Biochemistry. 4th Ed. Freeman

Energía producida en la cadena de transporte electrónico

Potencial reducción



0,816



-0,320

$$\Delta G^\circ = -nF \Delta E^\circ$$

F(constante de Faraday)= 96.480 julios/voltio.mol

$$\Delta E^\circ = 0,816 + 0,320 = 1,136 \text{ Volts}$$

$$\Delta G^\circ = -2 \times 96.480 \times 1,136 = 219.202 \text{ julios/mol} = 219,2 \text{ KJ/mol}$$

FUERZA PROTON-MOTRIZ

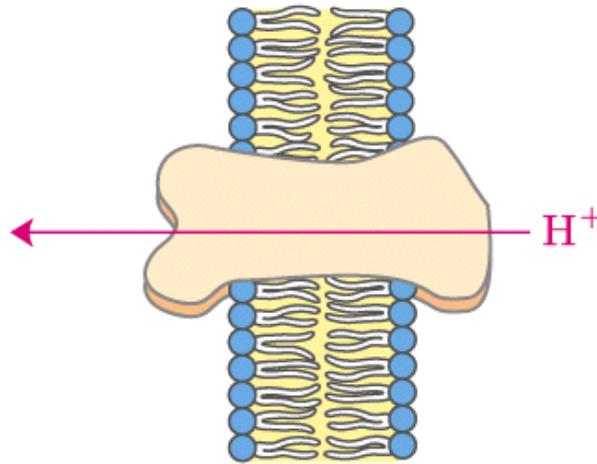
Espacio intermembranoso

Matriz

$$[H^+]_P = C_2$$

$$[H^+]_N = C_1$$

H⁺
H⁺
H⁺
H⁺
H⁺
H⁺
H⁺



OH⁻
OH⁻
OH⁻
OH⁻
OH⁻
OH⁻
OH⁻

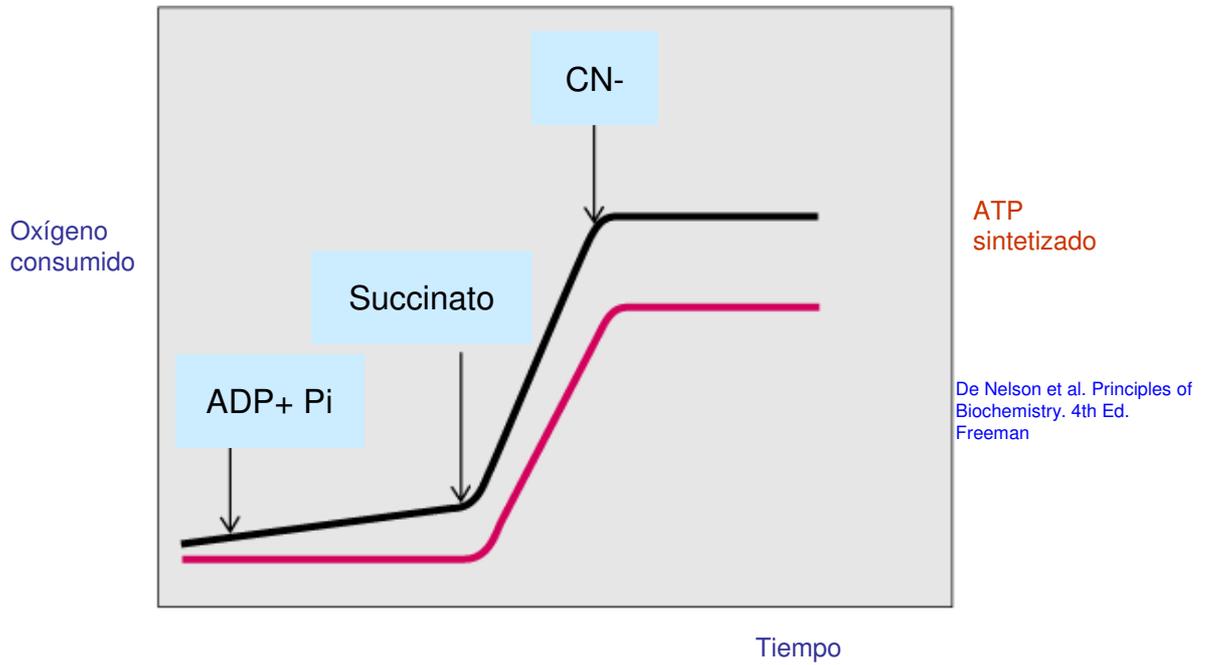
$$\begin{aligned} \Delta G &= RT \ln (C_2/C_1) + Z\mathcal{F}\Delta\psi \\ &= 2.3RT \Delta\text{pH} + \mathcal{F}\Delta\psi \end{aligned}$$

De Nelson et al. Principles of Biochemistry, 4th Ed. Freeman

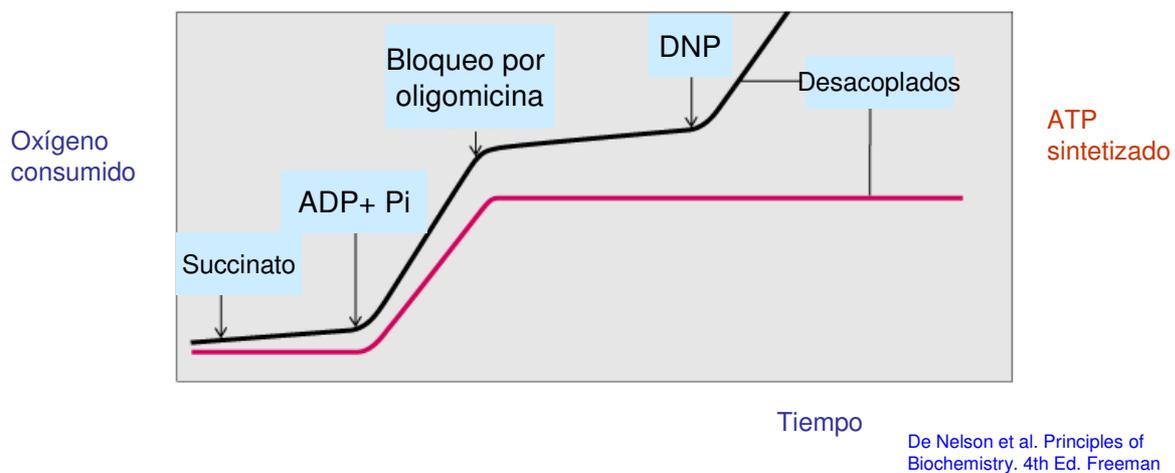
El transporte electrónico genera la energía suficiente para la síntesis de ATP

- La Energía generada por la transferencia de electrones entre los CoE de óxidorreducción se transforma en enlaces fosfato de alta energía mediante la fosforilación oxidativa.
- El transporte de electrones lo llevan a cabo cuatro complejos situados en la membrana interna mitocondrial
- El transporte de electrones genera un gradiente electroquímico a ambos lados de la membrana interna.
- La Energía almacenada en forma de gradiente (Fuerza protón- motriz) es suficiente para la síntesis de varias moléculas de ATP.

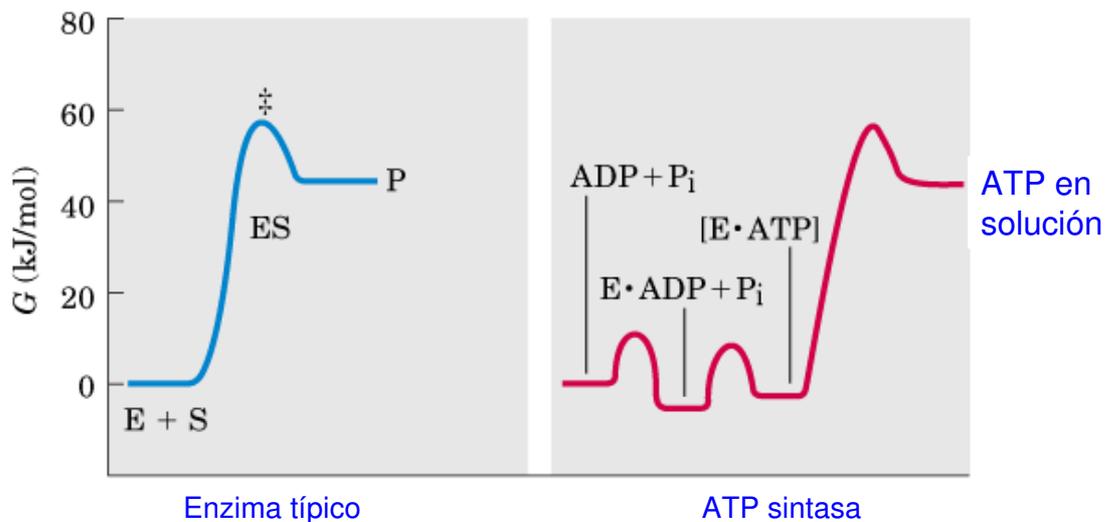
El Transporte electrónico y la síntesis de ATP son procesos acoplados. 1. Efecto del bloqueo del transporte electrónico



El Transporte electrónico y la síntesis de ATP son procesos acoplados. 1. Rotura del gradiente y agentes desacoplantes

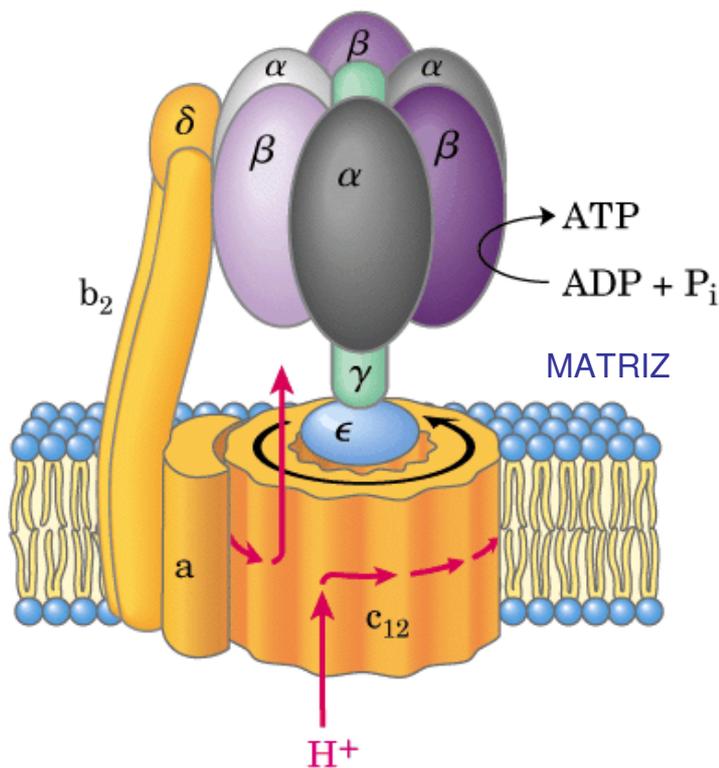


La energía del gradiente de protones se utiliza sobre todo para liberar al ATP del enzima



De Nelson et al. Principles of Biochemistry, 4th Ed. Freeman

La Sintasa de ATP es una ATPasa de tipo F

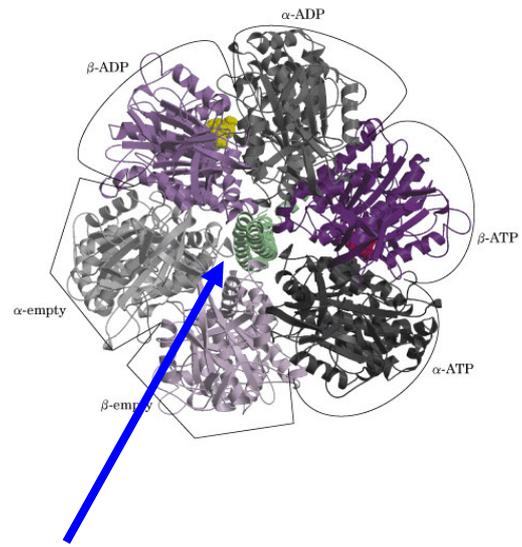
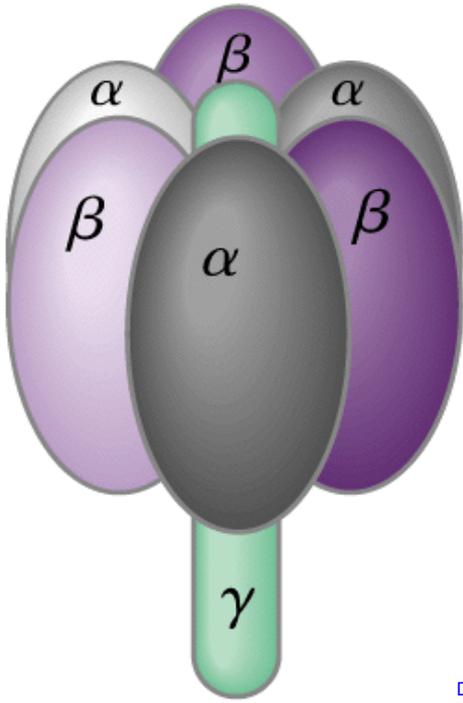


Dominio F1
 $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$

Dominio Fo
 $\text{Ab}_2\text{c}_{10-12}$

De Nelson et al. Principles of Biochemistry

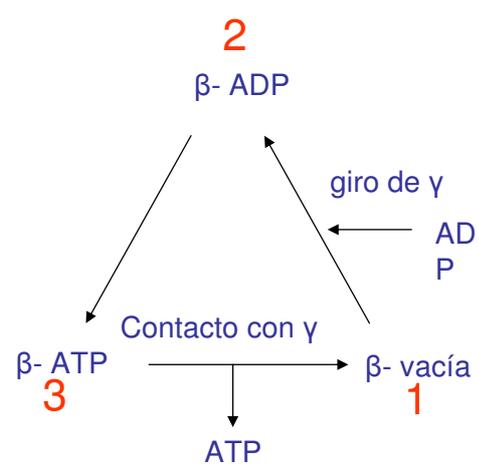
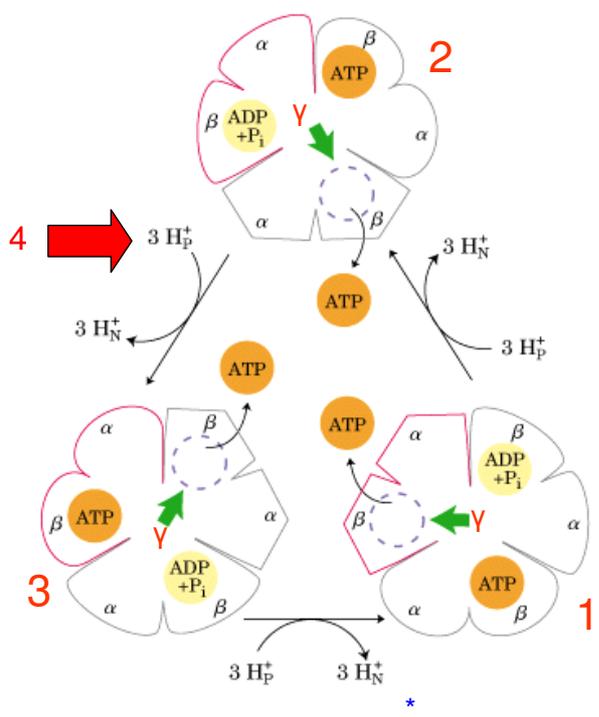
LAS SUBUNIDADES β PUEDEN ADOPTAR TRES TIPOS DE CONFORMACION



La subunidad γ se une a una subunidad β vacía

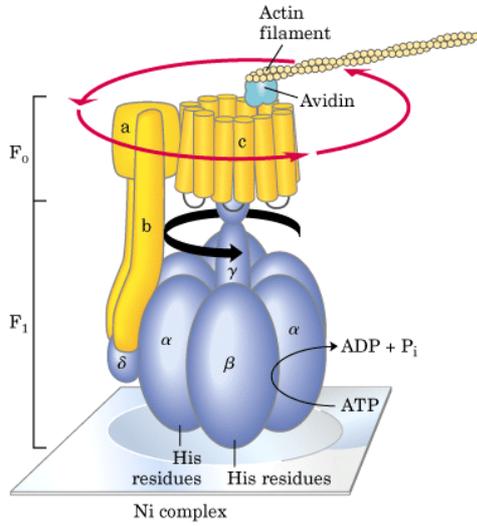
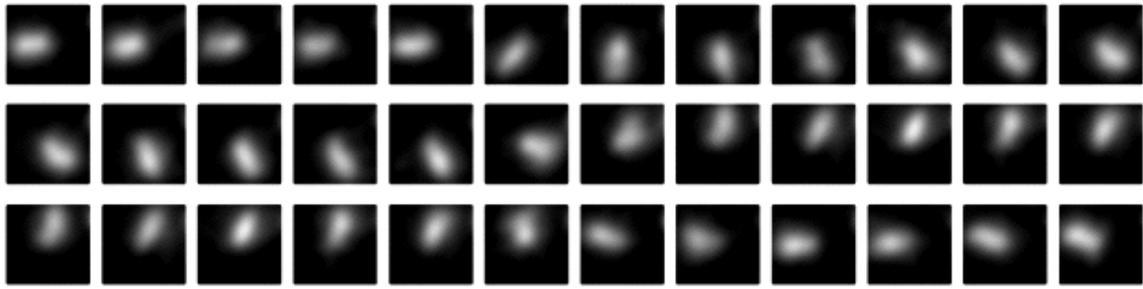
De Nelson et al. Principles of Biochemistry. 4th Ed. Freeman

El Mecanismo de síntesis de ATP es una catálisis rotacional mediada por el giro de la subunidad γ



De Nelson et al. Principles of Biochemistry. 4th Ed. Freeman

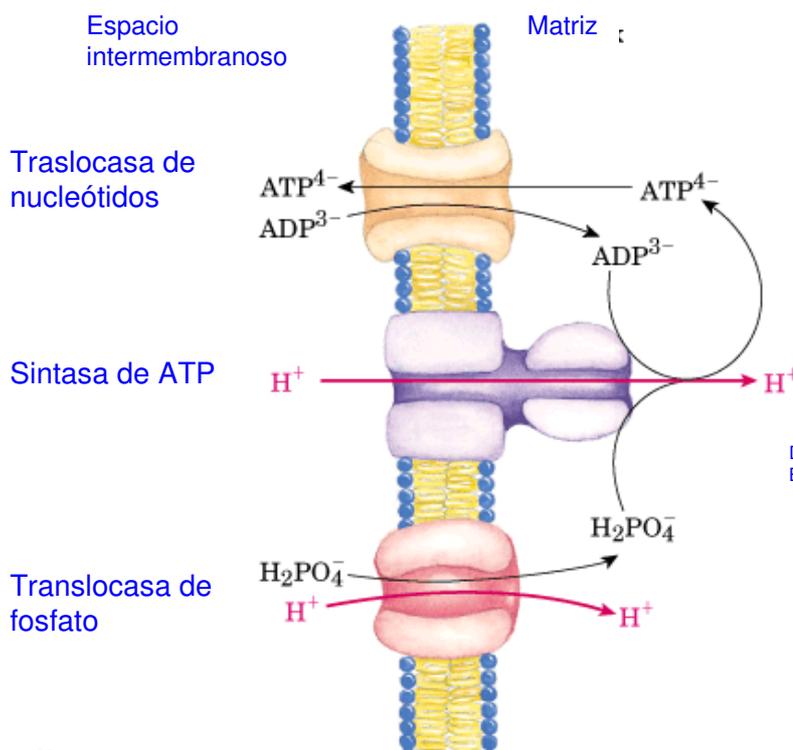
* En la actualidad se considera 4 H⁺/ATP



El giro de Fo y γ ha sido demostrado de forma experimental

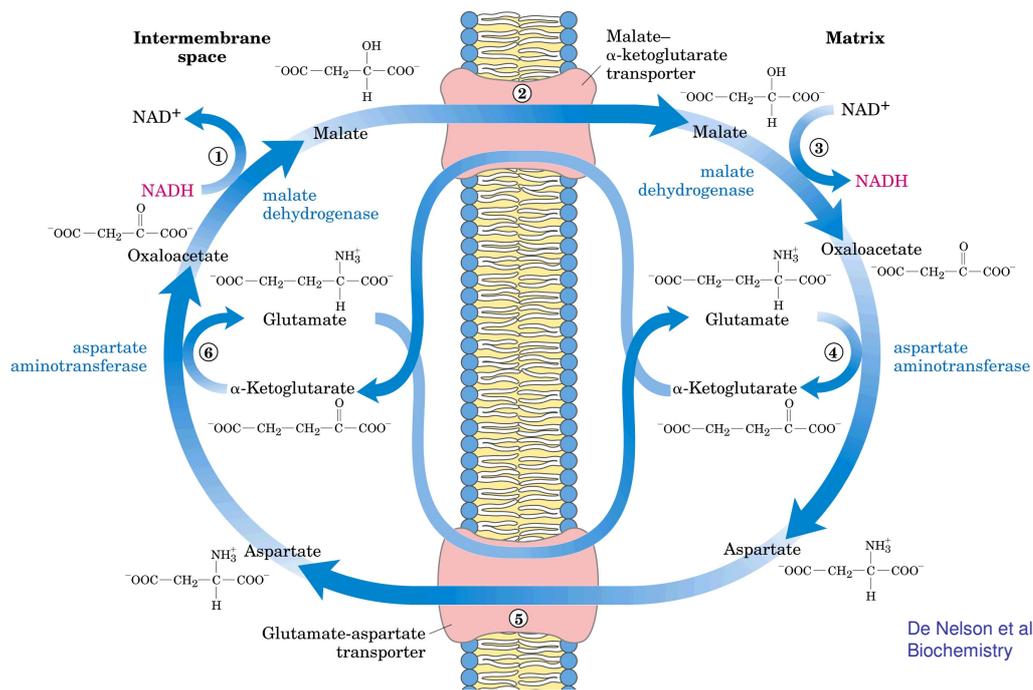
De Nelson et al. Principles of Biochemistry. 4th Ed. Freeman

La energía del gradiente de protones se utiliza también para el transporte

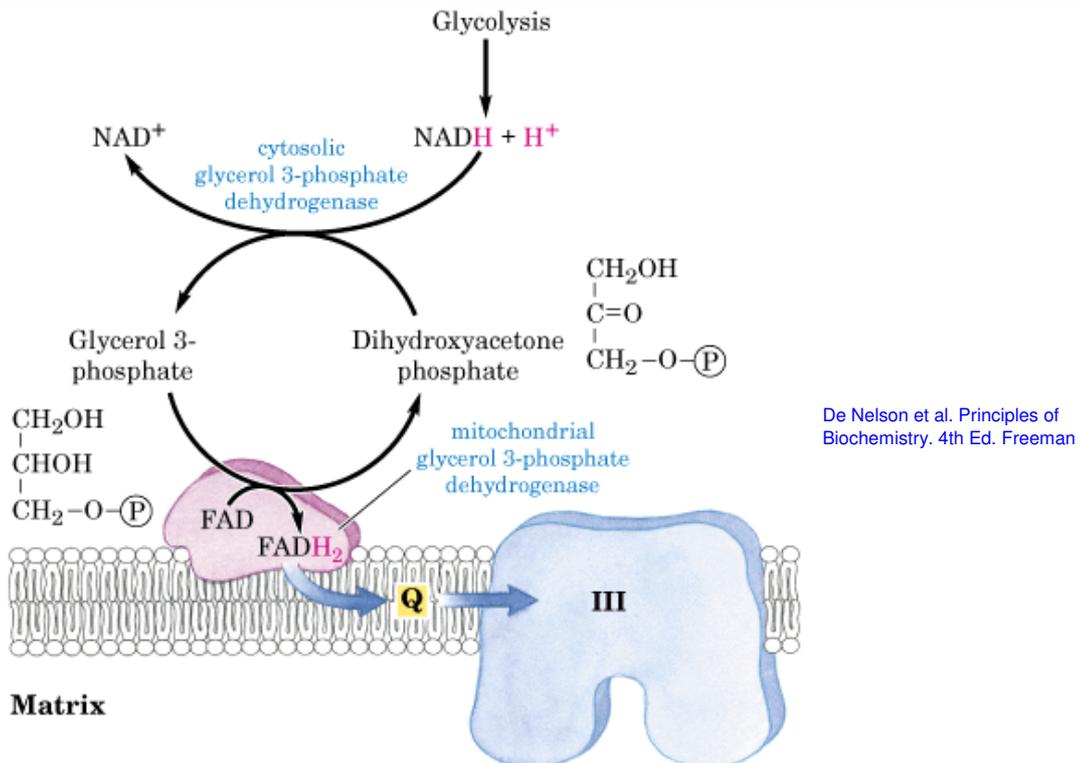


De Nelson et al. Principles of Biochemistry. 4th Ed. Freeman

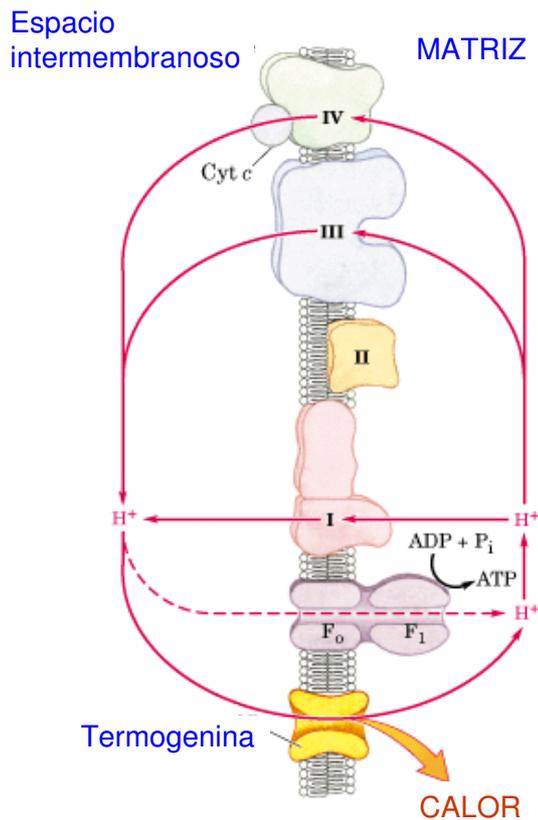
En el hígado, riñón y músculo cardíaco la Lanzadera del Malato- Aspartato transporta equivalentes de reducción al interior de la mitocondria



En tejidos como el cerebro y el músculo esquelético los equivalentes se transportan por la lanzadera del Glicerol fosfato



Las proteínas desacoplantes aprovechan la energía del gradiente para la producción de calor

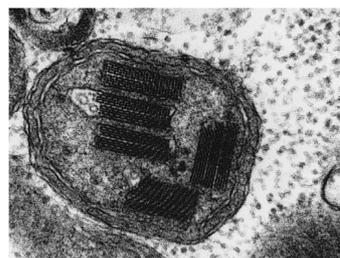
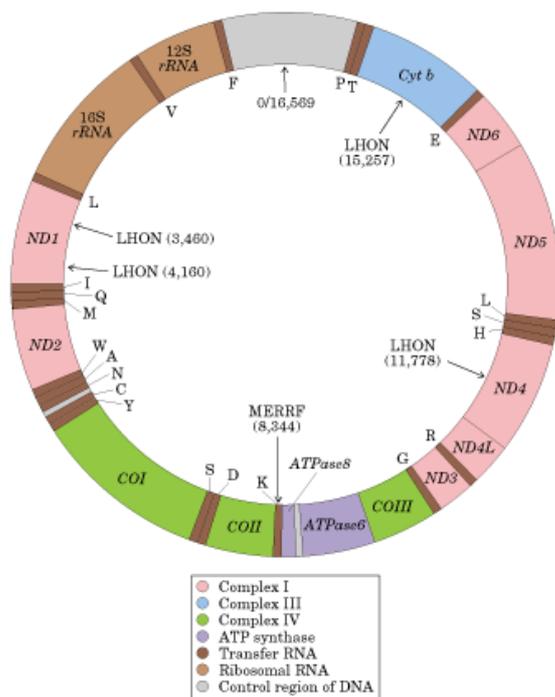


- UCP-1 Grasa marrón
- UCP-2 Ubicua
- Inducida por T3
- UCP-3 Músculo esquelético
- Inducida por T3
- UCP-4 Cerebro
- UCP-5 Cerebro

De Nelson et al. Principles of Biochemistry. 4th Ed. Freeman



DNA MITOCONDRIAL Y PATOLOGÍAS ASOCIADAS



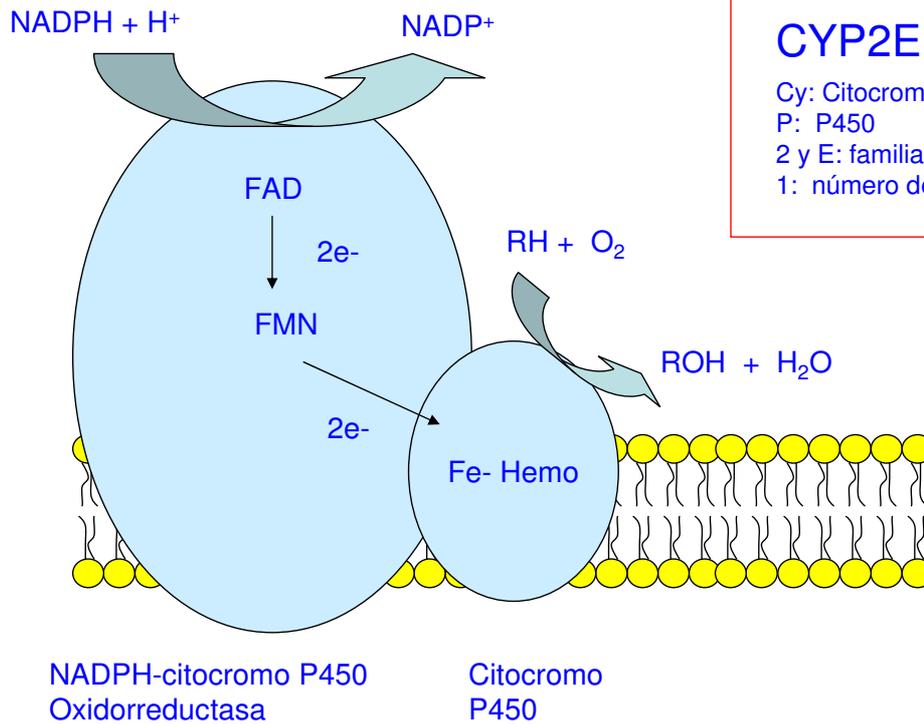
Encefalomiopatía de **Fibras Rojas Rasgadas** (MERRF) (NADH DH)

Neuropatía **Óptica Hereditaria de Leber** (LHON) (tRNA^{leu}/subunidades F_o)

MELAS (**M**yopathy, **E**ncephalomyopathy, **L**actic Acidosis láctica, **S**troke-like episodes) (tRNA^{lys})



Estructura general de las enzimas asociadas al Citocromo P450



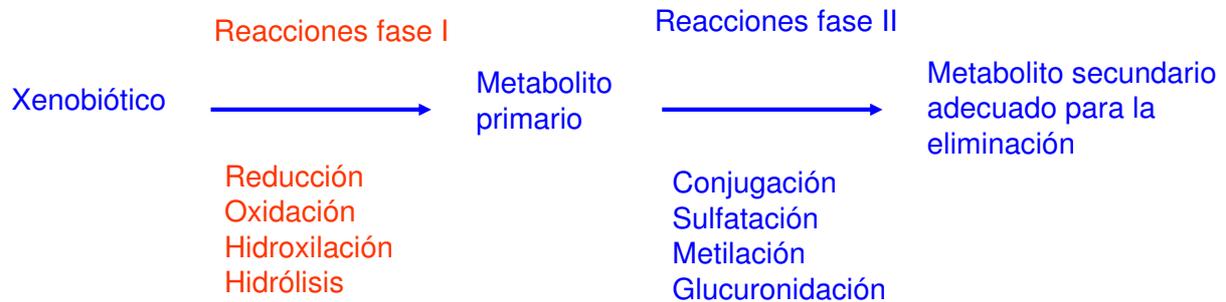
CYP2E1

Cy: Citocromo
P: P450
2 y E: familia y subfamilia
1: número del enzima

Características generales de los isoenzimas P450

1. Todas contienen citocromo P450 y una subunidad que contiene nucleótidos de flavina y que utiliza NADPH como sustrato
2. Están localizadas en el retículo endoplásmico liso (fracción microsómica)
3. Unidas a la porción lipídica de la membrana
4. Son inducibles por su sustrato y a veces por sustratos de otras isoenzimas P450
5. Todas generan radicales libres como intermedios de la reacción

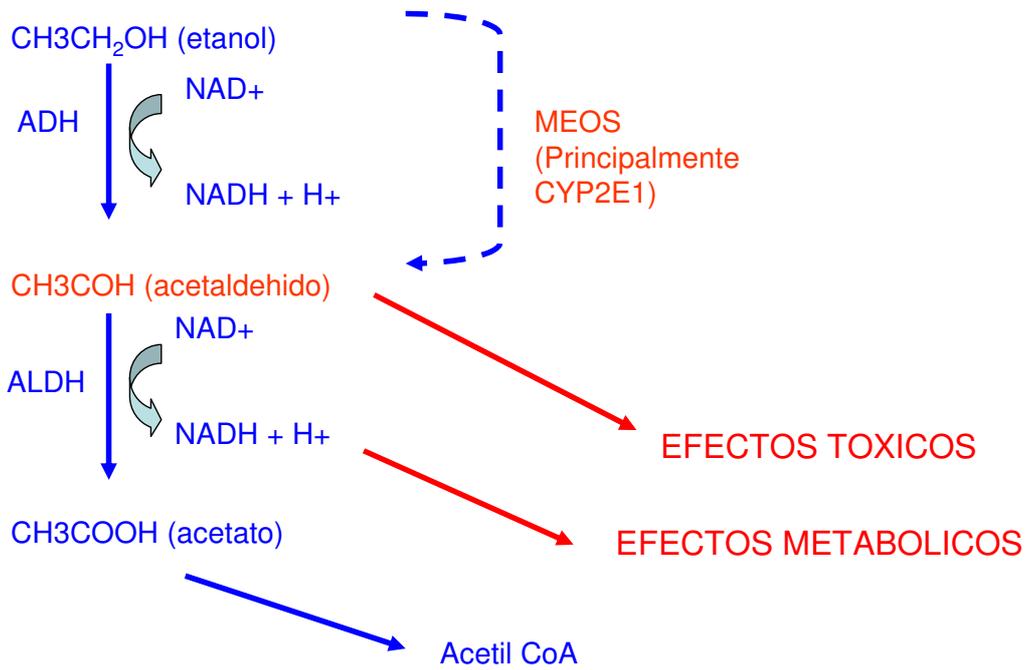
Esquema general de los procesos de eliminación de Xenobióticos



Algunos sustratos de isoenzimas P450

Xenobiótico	Enzima	Interacción
Cloruro de vinilo	CYP2E1	
Aflatoxina B1	CYP2A1	
Paracetamol	CYP2E1	Etanol
Barbitúricos	CYP2B2	Etanol (inhibición)

METABOLISMO DEL ETANOL



EFECTOS METABOLICOS DEL ETANOL

